

ANTITUMOR AGENT AND PRODUCTION THEREOF

Patent Number: JP63307825
Publication date: 1988-12-15
Inventor(s): ONO NAOHITO; others: 03
Applicant(s): NIPPON BEET SUGAR MFG CO LTD
Requested Patent: ☐ JP63307825
Application Number: JP19870141573 19870608
Priority Number(s):
PC Classification: A61K31/715; A61K45/00
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PURPOSE:To obtain an antitumor agent having excellent effects free from side effects, consisting of a combined material of a polysaccharide of antitumor activity, having beta-1,3 bond glucan as a main chain, comprising repeating units of the main chain under a specific condition, and an anti-cancer chemotherapeutic agent, as an active ingredient.

CONSTITUTION:An antitumor agent containing a combined material of a polysaccharide having antitumor activity, which has action function to bring about multiplication inhibition and destruction of tumor cell by activating immunological function of host, and a chemotherapeutic agent which directly acts on tumor cell to inhibit multiplying function of cell and has side effects to have bad influence on normal cell, as an active ingredient. This method not only extremely alleviates cytotoxicity of the chemotherapeutic agent by combination of the medicinal effects of both the agents is used, side effects are relived and frequent administration is made possible since the chemotherapeutic agent can be reduced in organism.

Data supplied from the **esp@cenet** database - 12

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-307825

⑤ Int.Cl.⁴A 61 K 31/715
45/00

識別記号

庁内整理番号

7431-4C
7252-4C

④ 公開 昭和63年(1988)12月15日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑬ 発明の名称 抗腫瘍剤及びその製法

⑭ 特 願 昭62-141573

⑮ 出 願 昭62(1987)6月8日

⑯ 発 明 者 大 野 尚 仁 東京都日野市東豊田3-15-1 豊田第1コーポラスー
405
⑯ 発 明 者 宿 前 利 郎 東京都多摩市貝取1-34 グリーンヒル貝取1-306
⑯ 発 明 者 及 川 昭 蔵 神奈川県横浜市南区六ツ川1丁目175番13号
⑯ 発 明 者 佐 藤 吉 朗 北海道帯広市南町東2条7-12-4
⑰ 出 願 人 日本甜菜製糖株式会社 東京都中央区京橋2丁目3番13号

明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

1. 発明の名称 抗腫瘍剤及びその製法

2. 特許請求の範囲

(1) β -1,3結合グルカンを主鎖とし、この主鎖のグルコース残基3ヶ当り β -1,6結合グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする抗腫瘍活性多糖と抗癌化学療法剤の結合体を有効成分とすることを特徴とする抗腫瘍剤。

(2) 抗腫瘍活性多糖が担子菌に属するマイタケを利用することにより得られる多糖である特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。

(3) 抗癌化学療法剤がアルキル化剤、代謝拮抗剤、制癌性抗生物質の群から選ばれたものである特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。

(4) β -1,3結合グルカンを主鎖とし、この主鎖のグルコース残基3ヶ当り β -1,6結合グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする抗腫瘍活性多糖を原形または化学修飾によ

り反応基を導入した誘導体を架橋剤または縮合剤の存在下で抗癌化学療法剤と反応させることにより前記抗腫瘍活性多糖と抗癌化学療法剤の結合体を生成せしめることを特徴とする抗腫瘍剤の製法。

(5) 抗腫瘍活性多糖が担子菌に属するマイタケを利用することにより得られる多糖である特許請求の範囲第(4)項記載の抗腫瘍剤の製法。

(6) 抗癌化学療法剤がアルキル化剤、代謝拮抗剤、制癌性抗生物質の群から選ばれたものである特許請求の範囲第(4)項記載の抗腫瘍剤の製法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

この発明は抗腫瘍剤に係り、抗腫瘍活性を有する β -1,3結合グルカンを主鎖とし、主鎖のグルコース残基3ヶ当り β -1,6結合グルコース1ヶを分枝する構造の多糖と抗癌化学療法剤の結合体に関する。

(従来の技術)

従来から主に担子菌に由来し、グルコースのみを構成糖とする多糖が数多く知られており、これら多糖のある種のものには抗腫瘍活性のあることも報告されている。例えばシイタケやスエヒロタケより得られた多糖は抗癌剤として臨床に供されており、抗癌化学療法剤との併用あるいはその他の物理療法との組合せで用いられている。

(発明が解決しようとする問題点)

抗癌化学療法剤は癌治療薬としてすぐれた薬剤と認められているが、その作用機作が直接細胞障害であるため、目的とする癌細胞のみならず正常細胞をも障害して重要な副作用を併発する不都合があり、さらに、化学療法剤は微生物における薬剤耐性と類似の現象として耐性化された癌細胞を生み出し、癌完治を困難としている。

かかることから、抗癌化学療法剤の細胞毒性を緩和するべく種々研究がなされているが未だ満足できぬ状況にあり、耐性化細胞に対しては構造上交叉耐性を示さない薬剤を用いることにより切り

性多糖と抗癌化学療法剤を化学的に結合せしめた結合体が化学療法剤の薬効を低下させることなく除放化をもたらし、これにより細胞毒性を緩和し更には多糖の抗腫瘍活性と相俟って薬効を相乗的に高めることを知り、この知見に基づき、この発明を完成させた。

(作用)

この発明に用いる β -1,3結合グルカン为主鎖とし、この主鎖のグルコース残基3ヶ当り β -1,6結合グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする抗腫瘍活性多糖は例えば担子菌を利用することによって得ることができ、例えば担子菌であるきのこ菌を培養して得る子実体や菌糸体の熱水抽出あるいはアルカリ溶液による抽出液から、あるいはまた前記きのこ菌の液体培養濾液からアルコール等の糖不溶性有機溶媒による沈でん法によって得ることができ、更にはこの発明者らの開発になる担子菌の培養菌糸体を糖質に接触させることにより、ほとんど純粋な形で得ることができるものであるが、特にこれらに限定されるも

抜けようとする試みもなされているものの延命を助けるにととまり完治させるまでには至っていない。前記のように、抗腫瘍活性多糖を化学療法剤に併用し、免疫機能を高めることにより完治をめざす療法は临床上いくらかの効果を示してはいるものの未だ満足できる形での問題解決には結びついていない。

抗体の利用や剤形変更による癌への薬物の特異的移行や徐放効果による副作用の軽減、さらには温熱療法や放射線療法等の物理療法を利用した所謂集約的治療法を使っても未だ死亡率をそれほど下げるには至っていない現状にあり、よりすぐれた抗腫瘍剤の出現が望まれている。

(問題点を解決するための手段)

この発明は、抗癌化学療法剤の薬効を低下させることなく、細胞毒性を緩和した抗腫瘍剤について鋭意研究した結果グルコースを構成糖とする、 β -1,3結合グルカン为主鎖とし、この主鎖のグルコース残基3ヶ当り β -1,6結合グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする抗腫瘍活

のではなく、上記のように説明する多糖構造と抗腫瘍活性を有するものであればいずれのものを用いてもよく、もう一方の有効成分となる抗癌化学療法剤も特別なものではなく広く投薬に供されている例えばメルファラン、ACNU等のアルキル化剤、サイトシンアラビノシド、メソトレキセート等の代謝拮抗剤、マイトマイシンC、アドリアマイシン、塩酸ダウノルビシン等の制癌性抗生物質を挙げることができる。上記抗腫瘍活性多糖は、多くの免疫学的研究により、その作用機作が宿主の免疫機能を活性化することにより、腫瘍細胞の増殖抑制や破壊をもたらすことが知られている。一方、化学療法剤は癌細胞に直接作用して細胞の増殖機能を障害するため、腫瘍細胞のみならず、正常細胞を障害するので、これによる重要な副作用のあることが知られる。

この発明は以上のような両薬剤の薬効をふまえ、これを化学的に結合せしめたところ、意外にも結合により化学療法剤の細胞毒性が顕著に緩和するばかりではなく抗腫瘍効果が増強されること

が知れた。

この発明はかかる知見に基づいてなされたもので、以下これにつき説明する。

いま、この発明の抗癌剤の一方の成分である抗癌活性多糖を担子菌サルノコシカケ科に属するマイタケ菌系を利用して得、これに他の結合成分である抗癌化学療法剤を化学的に結合せしめる。予め培養により増殖したマイタケ菌系を菌質のみ（例えばグルコース）を含む酸性（PH約4）水溶液に添加し、20～30℃で2～8日間通気攪拌下で接触反応せしめた後菌系を適当な手段例えば布を用いた遠心分離で除去した後の分離液に糖不溶性のアルコール等の有機溶媒を加えると生成した多糖が沈でんとなって析出するので、この沈でんを分離し、必要な場合には再度溶解、溶媒沈で行なった後得た沈でんを尿素溶液に溶かしカラムクロマト処理にかけて流出液の中性画分を採取し、チューブ透析で脱塩、低分子成分を除去した内液にアルコールを加えて沈でん生成せしめこれを分離して例えば凍結乾燥により乾燥すると白

カルボキシル基やアミノ基を化学修飾により導入させることにより結合させることができる。多糖にカルボキシル基を導入する方法は種々考えられるが、例えば炭素数1～5範囲のモノクロロあるいはモノブromo脂肪族カルボン酸を作用させることにより、カルボキシアルキル（ $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, $n=0\sim4$ ）を導入することができる。かくして遊離のカルボキシル基を持った多糖は遊離のアミノ基を持つメルファラン、ACNU（アルキル化剤）、シタラビン、メソトレキセート（代謝拮抗剤）、アクチノマイシン、マイトマイシンC、塩酸ブレオマイシン、塩酸ダウノビルシン、アドリアマイシン（副癌性抗生物質）と結合させることができる。また、多糖にアミノ基を導入するには、例えばエピクロロヒドリン（ $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ ）を作用させて後アンモニアを添加することにより、炭素数3の脂肪族アミンが導入される。かくして遊離アミノ基を持った多糖は遊離のカルボキシル基を持つ化学療法剤例えばメルファラン（アルキル化剤）、メソトレキセート（代謝拮抗剤）

色綿状の多糖を得る。この多糖は $\beta-1,3$ 結合する主鎖グルコース残基3ヶヨリ $\beta-1,6$ 結合グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする多糖で、ICR-系マウスに移植した実験癌サルコーマ180（固形）細胞の増殖抑制に対し、強い活性を示し、この発明で使用する抗癌活性多糖（以下単に「多糖」という。）である。ここで得た多糖と抗癌化学療法剤の結合は、両者の化学的に結合可能な反応基を考慮し、この反応に要する結合助剤（例えば縮合剤や架橋剤など）の存在下で行なう。多糖はグルコースのみを構成糖とするから結合に関与する反応基はヒドロキシル基で、直接結合可能な化学療法剤は遊離のカルボキシル基を持つ例えばメルファラン（アルキル化剤）、メソトレキセート（代謝拮抗剤）が挙げられ、エステル結合により容易に結合させることができる。反応基としてヒドロキシル基やアミノ基を持つ化学療法剤の結合は、二官能基を有する例えばグルタルアルデヒドやジエチルマロンイミデート等の架橋剤を用いて結合せしめるか、或は多糖に

と結合させることができる。また、多糖を部分分解することによってカルボキシル基を導入することもでき、例えば多糖を過ヨウ素酸塩で処理すると $\beta-1,6$ 結合グルコース（分枝グルコース）のピラノース環を構成する炭素番号第2位～第4位間の結合が開裂し開裂末端にアルデヒドを形成するので、これを酸化してカルボキシル基に変えることができる。

上記の如く、多糖を化学療法剤と化学的に結合せしめることは、多糖を原形のまゝ、あるいは化学修飾により遊離の反応基を導入することによって行ないうるが、化学修飾により多糖の抗癌活性が低下することおそれにくい。これについて検討した結果、反応基導入の度合（グルコース残基当り導入された反応基のパーセントで示し、これを置換率という。）によって抗癌活性が影響を受けることが知れた。すなわち、多糖にモノクロロ酢酸を作用させて置換率25%及び50%のカルボキシメチル化多糖を調製し、これをサルコーマ180（固形）細胞を移植したマウスに投与し

たときの夫々の抑止傾向は第1表に示す如きで、置換率 25 %では無修飾の活性の約71%を保持しているが、50 %では約30%まで低下する。このことから、化学修飾による反応基の置換率を20%～30 %の範囲とすることが必要となる。

第1表

置換率 (%)	投 与 $\mu\text{g}/\text{マウス} \times \text{回}$	腫瘍重量 平均 (g) \pm SD	抑止率 (%)
25	250 \times 5	1.95 \pm 2.28	67.50
51	250 \times 5	4.25 \pm 2.85	29.17
無修飾多糖	100 \times 5	0.26 \pm 0.62	95.67
対 照 ^{*)}	-	5.00 \pm 4.00	-

試験要領

ICR-系6週令のマウス(雄、体重27～30g)1群10匹を使用し、そけい部皮下に固形サルコーマ180細胞の 5×10^4 ケを移植し、翌日をスタート日として10, 12, 14, 16及び18日に生理食塩水に溶かした各試料を腹腔内に投与、35日目に

解剖して測定。

$$1) (1 - T/C) \times 100$$

C—対照群の腫瘍重量平均 (g)

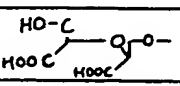
T—試験群の腫瘍重量平均 (g)

2) 対照群には生理食塩水を投与

更に前記要領により置換率 20～30 %の範囲としてカルボキシル基及びアミノ基を導入した多糖の抗腫瘍活性の状況を第2表に示す。

(以下余白。)

第2表

化学修飾形	投 与 $\mu\text{g}/\text{マウス} \times \text{回}$	腫瘍重量 平均 (g) \pm SD	抑止率 (%)
$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$	100 \times 5 500 \times 5	0.93 \pm 1.42 2.24 \pm 2.19	85.2 64.4
$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$	100 \times 5 500 \times 5	2.42 \pm 3.51 2.37 \pm 1.50	61.5 62.3
	50 \times 5 250 \times 5	0.16 \pm 0.16 1.98 \pm 1.57	97.5 68.5
$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$	100 \times 5 500 \times 5	0.02 \pm 0.03 0.06 \pm 0.07	99.7 99.0
無修飾多糖	100 \times 5 500 \times 5	0.30 \pm 0.47 0.29 \pm 0.25	95.2 95.4
対 照	-	6.29 \pm 4.64	-

試験要領及び表示は第1表に同じ。

第2表の結果から、置換率 20～30 %の範囲では遊離基に付く直鎖部分の長短は炭素数5程度までは活性に影響しないことが示唆される。

以上の結果から、反応基の置換率を20～30 %の範囲とすることがこの発明においては本質的ではあるが、またある場合には結合体の投与形態によっては水に易溶なものを得たい場合も起り得ることで、かかる場合には、結合体自体の抗腫瘍活性を損なわない限りにおいて、カルボキシル基の置換率を高めるとか多糖を錯体もしくは超音波で処理して低分子化した後上記要領で化学修飾すればよい。かように多糖を低分子化した場合の分子量と活性の関係は第3表に示す如くで、分子量約20,000が低分子化の限界となる。

(以下余白。)

第3表

分子量	投 与		平均値 ±SD	死亡率 (%)
	μg/77g × 回	経 路		
34,000	100×5 500×5	腹腔内	1.97±3.15 1.18±2.25	71.6 83.8
21,000	100×5 500×5		4.76±3.15 4.76±4.05	31.3 31.3
6,200	100×5 500×5		7.15±3.74 6.38±2.51	3.2 7.9
多糖(原形)	100×5 500×5		0.65±1.32 0.06±0.05	90.6 99.1
34,000	100×5 500×5	静脈内	3.20±2.66 1.23±1.78	53.8 82.3
21,000	100×5 500×5		3.22±3.37 4.77±3.48	53.5 31.2
6,200	100×5 500×5		5.09±2.07 5.61±3.28	26.6 19.1
多糖(原形)	100×5 500×5		1.23±2.60 1.24±1.73	82.3 82.1
対 照	—		6.93±5.03	—

試験要領及び表示

投与経路を2経路とした以外は第1表に同じ。

マイトマイシンCの結合量は理論値(100μg中約33μg)に比べて過少であるが、その原因の1つに多糖の複雑な立体配座により立体障害を受けマイトマイシンCがカルボキシ基へ接近できないことが考えられる。しかしながら、結合体自体の抗癌活性を損なわない限度においてカルボキシメチル基の置換率をコントロールすることによってマイトマイシンCの結合量を高めることが可能と思われる。

上記で得た結合体は、PH 5.6の緩衝液中で徐々に加水分解してマイトマイシンCを遊離する傾向を示し、その半減期はおよそ6時間と見積もられる。この様子を第1図に示す。このPH値は断々生体内のPH環境に相当することを考慮するとき、結合体とすることにより生体内においてマイトマイシンCの徐放が起りうることを予測するに困難はなく、この徐放化によりマイトマイシンCの細胞毒性緩和がもたらされることが十分期待される。そこで正常マウス(雄、体重27~30g)にこの結合体、マイトマイシンC単独、カルボキシメチル化

以上にて多糖と抗癌化学療法剤を化学的に結合せしめる条件等を詳細説明したが、次に多糖と抗癌性抗生物質の1種であるマイトマイシンCとの結合体について説明すると、多糖をアルカリ水溶液に溶解し、これに過剰量のモノクロロ酢酸を加え40~70℃で3~5時間攪拌下で反応させた後反応液を透析して脱塩と低分子成分を除去し、内液を凍結乾燥すると白色のカルボキシメチル化多糖を得る。得られたカルボキシメチル化多糖を分析したところカルボキシメチル基の置換率は20~30%の範囲内であった。このカルボキシメチル化多糖を水に溶かし、PHを4~6とし、約1/10量のマイトマイシンCを加え縮合剤として水溶性カルボジイミドを加えPHを4~6に保持しながら10~20℃で3~5時間攪拌下で反応させると沈でんを生ずるに至る。この沈でんを遠心分離し水洗後凍結乾燥すると紫色をしたこの発明の結合体を得る。この結合体についてマイトマイシンCの結合量を測定(波長340nmによる分光分析)した結果、結合体100μg中3~5μgの範囲であった。この

多糖とマイトマイシンCの併用をマイトマイシンCの投与量が同量となるようにして多量投与してその生存傾向を調査したところ、その傾向は第2図の如くで、マイトマイシンC単独800μg/77g投与(イ)では6日経過で約90%が死亡し、マイトマイシンC 800μg/77g、カルボキシメチル化多糖20mg/77g投与(ロ)では同日経過で約60%が死亡したに比べ、結合体20mg/77g(マイトマイシンC 600~1000μg、平均800μg結合)投与(ハ)では同日経過時点では100%生存し、なおこの状態を持続する傾向を示した。このことは、マイトマイシンCの毒性が結合体によって緩和したことを明らかに示し、併用の場合に認められない大きな特徴点である。

次にこの結合体の抗癌毒性について試験した結果を説明すると、ICR一系のマウス(雄、体重27~30g)1群10匹を2群用意し、それぞれに腹水形サルコーマ180細胞 1×10^6 ケを腹腔内に移植し、移植後すぐに結合体及びマイトマイシンCを生理食塩水に溶かして腹腔内に投与し、移植日から

ら 7 日目に解剖して測定した結果、マイトマイシンCの等量による抑止率は第3図の如くで、マイトマイシンC等量で両者を比較するとき、結合体による抑止率(イ)の傾向がマイトマイシンC単独の抑止率(ロ)の傾向をはるかに上まわることが認められ、このことはマイトマイシンCを多糖に結合したことによりもたらされる薬効の増強を意味し、両者結合体による抗腫瘍効果が相乗的であることを教える。このような活性増強も結合体としたことによりもたらされる大きな特徴の一つである。

以上の例で明らかなように、多糖と化学療法剤の結合体は化学療法剤の抗腫瘍性を低下させることがないばかりでなく、むしろ相乗的に活性が高められ、生体内において化学療法剤を徐放化して細胞毒性を緩和することが期待されるので、従来化学療法剤の投与に当って問題となっている副作用を改善することと相俟って高い薬効が期待できるものである。かように、薬剤としてすぐれた作用を有する、多糖と化学療法剤の結合体を有効成

め凍結乾燥により乾燥物2.1gを得た。

この乾燥物2gを8モル尿素水溶液に溶解し、DEAE-セファデックスA-25(HCO₃⁻型)のカラムにかけて流出液から中性画分を分取しセルロースチューブ(白井松器械)で透析して得た内液に1.5倍量のエタノールを加えて沈でんを生成せしめ、これを集めて凍結乾燥して白色の綿状の物質1.2gを得た。

この物質を分析したところ、グルコースのみを構成糖としたβ-1,3結合グルカンを主鎖とし、主鎖グルコース残基3ヶ当りβ-1,6グルコース1ヶを分枝する構造を繰り返し単位とする多糖で、マウスに移植した固形サルコーマ180細胞に対し高い抑止率を示した。

(ロ) カルボキシメチル化多糖の調製

(イ) で得た多糖700mgを1N-NaOH 70mlに溶解し、モノクロロ酢酸(試薬特級)5gを加え60℃、3時間攪拌しながら反応させ、反応液をセルロースチューブ(前記に同じ)を用い透析し、内液を凍結乾燥して白色乾燥物753mgを得た。これを分

分とする薬剤は各種腫瘍の治療に有用な抗腫瘍剤であり、各種剤形及び経路で投与でき、投与に当っては多糖自体は天然物で毒性を示さないものであるから、結合する化学療法剤の通常の投与処法に従って投与されてよいものである。以下実施例により具体的に説明する。

(実施例)

(イ) 多糖の調製

サルノコシカケ科に属するマイタケ菌株グリフオラ・フロンドッサ・バル・トカチアーナ(*Gri-fola frondosa* var *tokachiana*) (特公昭56-53351号記載、微工研国寄第4979号)の継代斜面培地面から3×3mmの切片2片を取り出し、これを初発種として3段培養して得た菌糸をグルコース5%、クエン酸0.5%、PH 4.0の糖質溶液2Lを取容する3L容量ジャーファーマンターに加え、通気量0.5 VVM、28℃、250 r.p.mで2日間反応後、内容物を遠心分離して菌糸を分離除去した上澄液にエタノール濃度40容量%になるまでエタノールを加えて沈でんを生成せしめ、これを遠心分離で集

析した結果、カルボキシメチル基の置換率は25%であった。

(ハ) 多糖-マイトマイシンC結合物の調製

上記(ロ)で得た乾燥物300mgを蒸留水30mlに溶解し、塩酸でPH 4.0に調整した後マイトマイシンC(市販品)30mgを加え、縮合剤として水溶性カルボジイミド(EDC)2gを加え、PHを6.0に保ちながら15℃で4時間反応させ、反応液を遠心分離して生成した沈でんを集め、冷水で洗滌後凍結乾燥して紫色の乾燥物238mgを得た。この乾燥物を分析した結果、マイトマイシンCの結合量は100μg中4μgであった。

(ニ) 結合物の抗腫瘍性

IRC一系のマウス(雄、体重27~30g)1群9匹を6群用意し、夫々の群に取水型サルコーマ180細胞1×10⁶ヶを腹腔内に移植し、移植日の翌日をスタート日として1,2,3,4及び5日に生理食塩水に溶かしたマイトマイシンC、上記(ロ)のカルボキシメチル化多糖及び上記(ハ)の結合物を夫々腹腔内に投与し、延命を調査した。この結果

を第4表に示す。

(以下余白。)

第5表

供試薬剤	投 与 $\mu\text{g}/\text{マウス} \times \text{回}$	生存時間 平均(日) $\pm \text{SD}$	延命率 ¹⁾ (%)	完全退縮 (割合)
マイトマイシンC	10 \times 5	38.4 \pm 20.3*	126	1/9
加水分解 化多糖	100 \times 5 500 \times 5	15.6 \pm 4.6 15.7 \pm 3.5	-9 -8	0/9 0/9
結合体	100(4) \times 5 ²⁾ 500(20) \times 5	21.6 \pm 8.8 63.2 \pm 17.8***	27 272	0/9 3/9
対 照	-	17.0 \pm 4.6	-	0/9

1) $(T/C \times 100) - 100$

C 対照群の生存時間平均(日)

T 試験群の生存時間平均(日)

2) ()内はマイトマイシンCの量

* $p < 0.05$ *** $p < 0.001$

(効 果)

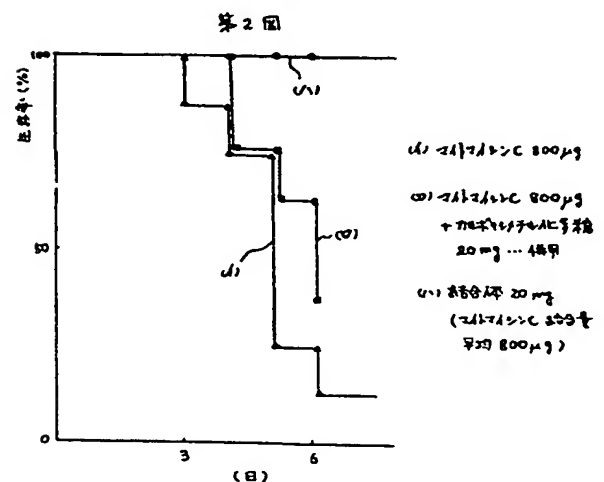
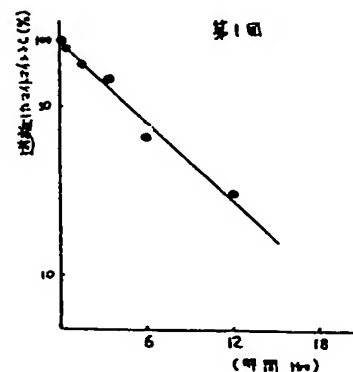
この発明の抗腫瘍剤を用いるときは生体内で化学療法剤を徐放化できるので、化学療法剤の薬効を低下させることなく細胞毒性を緩和して副作用の軽減をもたらすから頻回投与を可能とする。また結合体の他の成分である多糖が免疫機能を活性するので両者相俟って効果的な制癌作用をもたらすことになるのできわめて有益である。

4. 図面の簡単な説明

第1図はPH 6.6緩衝液中における結合体の加水分解の様子を示し、第2図は結合体をマウスに大量投与したときの生存の状況を示し、第3図は結合体の移植腫瘍に対する抑止傾向を示す。

特許出願人

日本製薬製薬株式会社



手続補正書(方式)

昭和62年12月01日

特許庁長官殿

- 1 事件の表示 昭和62年特許願第141573号
- 2 発明の名称 抗癌剤及びその製法
- 3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 〒104

東京都中央区京橋2丁目3番13号

ニホンシュウサイゼン

名 称 日本甜菜製糖株式会社

代表者 佐々田 鎮正



- 4 正命令の日付 昭和62年08月05日

(発送日 昭和62年08月25日)

- 5 補正の対象 (1)「適正な顧客」

(2)「明細書」

- 6 補正の内容 (1)「顧客に最初に添付した明細書の浄書・別紙のとおり(内容に変更なし)」

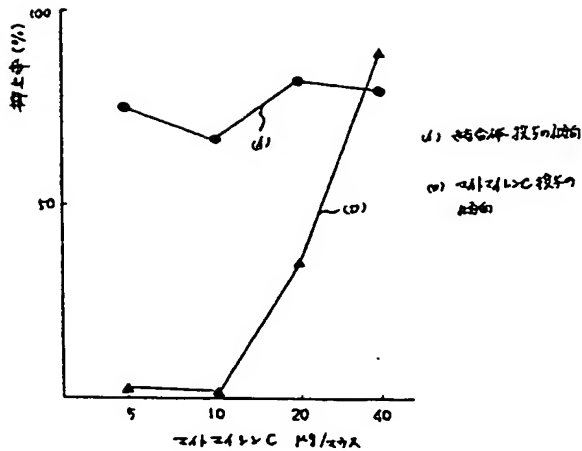
- 7 添付書類の目録

登記簿謄本

1通



第3回



手続補正書(自発)

昭和63年03月4日

特許庁長官殿

- 1 事件の表示 昭和62年特許願第141573号
- 2 発明の名称 抗癌剤及びその製法
- 3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 〒104

東京都中央区京橋2丁目3番13号

ニホンシュウサイゼン

名 称 日本甜菜製糖株式会社

代表者 佐々田 鎮正



- 4 補正命令の日付 自発
- 5 補正により増加する発明の数 なし
- 6 補正の対象 「浄書明細書の発明の詳細な説明の欄」
- 7 補正の内容 (1) 明細書第9頁第12行「塩酸ダウノビルン」とあるを「塩酸ダウノルピシン」と補正する。
(2) 明細書第21頁第11行「 β -1,6グルコース」とあるを「 β -1,6結合グルコース」と補正する。
(3) 明細書第22頁第14行「IRC-系」とあるを「ICR-系」と補正する。



- (4) 明細書第24頁第1行「第5表」とあるを「第4表」と補正する。

- (5) 明細書第25頁第6行「活性」とあるを「活性化」と補正する。